DER EINFLUSS VON EISEN- UND VITAMIN-E-MANGEL AUF DIE BLUTVISKOSITÄT NEUGEBORENER FERKEL

Joakim Moerbiarto Ongkowidjaja

1979

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41535722_0071

AUS DER KINDERKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

IM DR. VON HAUNER'SCHEN KINDERSPITAL

DIREKTOR: PROF. DR. K. BETKE

DER EINFLUSS VON EISEN- UND VITAMIN-E-MANGEL AUF DIE BLUTVISKOSITÄT NEUGEBORENER FERKEL

INAUGURAL - DISSERTATION

ZUR ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE IN DER GESAMTEN MEDIZIN

AN DER LUDWIG-MAXIMILIANS-UNIVERSITÄT MÜNCHEN

VORGELEGT VON

JOAKIM MOERBIARTO O N G K O W I D J A J A

AUS

PALEMBANG/INDONESIEN

MÜNCHEN

1979

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der
Universität München

Berichterstatter: Priv.Doz. Dr. O. Linderkamp

Mitberichterstatter: Prof. Dr. K. Betke

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 30.01.1979

DISSERTATIONS– UND FOTODRUCK FRANK oHG
8 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2 8 09090

to my parents

INHALTSVERZEICHNIS SEITE

1.	EINLEITUNG	1
2.	PATHOPHYSIOLOGISCHE GRUNDLAGEN	3
2.1.	Aufbau der Tocopherole	3
2.2.	Wirkungsmechanismen von Vitamin E	4
2.3.	Folgen von Vitamin-E-Mangel	5
2.4.	Schutzeffekte von Vitamin E gegenüber Sauerstoff	6
3.	VERSUCHSTIERE UND METHODEN	7
3.1.	Versuchstiere	7
3.2.	Methoden	10
3.2.1.	Erythrozytenparameter	10
3.2.2.	Retikulozyten	11
3.2.3.	Peroxid-Hämolyse	11
3.2.4.	Erythrozytendichte	12
3.2.5.	Viskosität	15
4.	ERGEBNISSE	17
5.	DISKUSSION	21
6.	ZUSAMMENFASSUNG	25
7.	TABELLEN	27
8.	LITERATURVERZEICHNIS	29

1. EINLEITUNG

Anämien gehören während der Neugeborenen- und Säuglingszeit zu den wichtigsten Erkrankungen. Von den pathologischen Anämien abzugrenzen ist die physiologische Abnahme der Hämoglobinkonzentration während der ersten 6 Wochen nach der Geburt auf etwa 11 g/dl (Betke 1958, 1959). Echte Anämien entstehen vorwiegend durch Eisenmangel, seltener durch Blutverlust oder kongenitale hämolytische Anämien. Daneben wird insbesondere bei Frühgeborenen die Entstehung einer hämolytischen Anämie durch Vitamin-E-Mangel diskutiert (Hassan et al. 1966, Oski u. Barness 1968, Ritchie et al. 1968, Gross u. Melhorn 1974).

Neugeborene Ferkel entwickeln innerhalb von zwei Wochen nach der Geburt eine schwere Eisenmangelanämie, wenn ihnen kein medikamentöses Eisen verabreicht wird (Furugouri et al. 1968, Walser u. Schwarz 1969, Furugouri 1974, Harmon et al. 1974, Roth 1976). Vitamin-E-Mangel läßt sich bei Ferkeln zusätzlich zum Eisenmangel erzeugen, indem das Muttertier während der Gravidität Vitamin-E-arm ernährt wird (Baustad u. Nafstad 1972). Solche Ferkel können als Modell des bei menschlichen Frühgeborenen beobachteten gleichzeitigen Vitamin-E- und Eisenmangels (Williams et al. 1975) dienen.

Mikrozytose infolge Eisenmangels hat einen ungünstigen Effekt auf die Fließeigenschaften des Blutes. Die Viskosität steigt bei gegebenem Hämatokrit an (Klose et al. 1976, Linderkamp et al. 1976); die Erythrozyten sind weniger deformierbar (Card u. Weintraub 1971). Vitamin-E-Mangel ändert dagegen die Deformierbarkeit der Erythrozyten nicht wesentlich (Levander et al. 1977 a, b, 1978). Unbekannt ist, ob Vitamin-E-Mangel zusätzlich zu Eisenmangel die rheologischen Eigenschaften weiter verschlechtert.

Ziel der vorliegenden Arbeit war, den Einfluß von Eisen- und Vitamin-E-Mangel auf die Viskosität des Blutes zu untersuchen. Darüber hinaus wurde untersucht, ob die Dichte der Erythrozyten, die ein Maß für das Alter der Erythrozyten darstellt (Piomelli et al. 1967), die Viskosität beeinflußt.
Die Untersuchungen der vorliegenden Arbeit wurden im Rahmen des Sonderforschungsbereichs 147 der Deutschen Forschungsgemeinschaft in Zusammenarbeit mit den Veterinärmedizinern des Instituts für Tierpathologie der Universität München durchgeführt, die freundlicherweise die Blutproben zur Verfügung stellten.

2. PATHOPHYSIOLOGISCHE GRUNDLAGEN

2.1. Aufbau der Tocopherole

Die chemischen Substanzen mit Vitamin-E-Wirkung werden als Tocopherole bezeichnet. Sie bestehen aus dem Chromangerüst mit einer Phytolseitenkette. Die verschiedenen Tocopherole unterscheiden sich durch die Zahl und Stellung der Methylgruppen am Chromanring (Abb. 1).

Alpha-Tocopherol besitzt die größte biologische Wirkung. Die relativen Wirksamkeiten betragen:
alpha: 100; beta: 40; gamma: 8; delta: 1 (Böhles 1978).

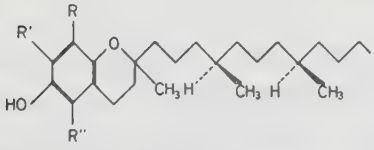

Abbildung 1 Tocopherolstrukturen
alpha-Tocopherol: $R = CH_3$, $R' = CH_3$, $R'' = CH_3$
beta-Tocopherol: $R = CH_3$, $R' = H$, $R'' = CH_3$
gamma-Tocopherol: $R = CH_3$, $R' = CH_3$, $R'' = H$
delta-Tocopherol: $R = CH_3$, $R' = H$, $R'' = H$

(aus Böhles 1978)

2.2. Wirkungsmechanismen von Vitamin E

Mehrfach ungesättigte Lipide - hierzu zählen u. a. die Phospholipe - werden durch freie Radikale - Peroxid, Superoxid, Hydroxyl-Radikale - oxidiert und zerstört (Carell et al. 1975). Tocopherole reagieren mit diesen freien Radikalen und schützen hierdurch die ungesättigten Lipide. Da die ungesättigten Lipide am Aufbau der zellulären und intrazellulären Membranen beteiligt sind, führt ihre Zerstörung zu Schädigung dieser Membranen. Sind die Lysosomenmembranen betroffen, so werden lysosomale Enzyme frei, die zu Destruktion der Zellen führen (Tappel et al. 1962).

Die oxidative Destruktion von Zellstrukturen wurde insbesondere am Erythrozyten untersucht (Carell et al. 1975). Im Erythrozyten entstehen ständig kleine Mengen von Methämoglobin durch Oxidation des zweiwertigen zum dreiwertigen Eisen. Das vom Eisen abgespaltene Elektron verbindet sich mit Sauerstoff zu Superoxid. Instabile Hämoglobine, Thalassämie, Hitze, Metallione (Fe^{++}, Cu^{++}) und oxidative Medikamente wie Acetylphenylhydrazin fördern die Bildung von Methämoglobin und damit die Bildung "aktiven" Sauerstoffs. Das Enzym

Superoxiddismutase wandelt das Superoxid in Wasserstoffperoxid (H_2O_2) um. Das H_2O_2 wird durch reduziertes Glutathion zu H_2O reduziert, das Glutathion hierbei oxidiert. Als Enzym fungiert die Glutathion-peroxidase. Das reduzierte Glutathion wird wiederum durch NADPH (Pentosephosphatzyklus) reduziert. Trotz rascher Inaktivierung bedeutet die ständige Entstehung "aktiven" Sauerstoffs eine Gefahr für Lipide, einige Strukturproteine und Enzyme. Vitamin E scheint hier eine wichtige Schutzfunktion auszuüben. Neben der Antoxidanswirkung soll Vitamin E eine Rolle bei der Hämsynthese spielen: Bei Vitamin-E-Mangel ist die Aktivität der Aminolävulinsäure-Synthetase und Dehydrogenase vermindert (Caasi et al. 1972).

2.3. Folgen von Vitamin-E-Mangel

Die Wirkungen von Vitamin-E als Antoxidans und bei der Hämsynthese lassen erwarten, daß ein Mangel zu erhöhter Empfindlichkeit gegenüber oxidierenden Substanzen und Störung der Erythropoese führt. Die gesteigerte Hämolyse durch Peroxide dient als zuverlässiger Nachweis eines Vitamin-E-Mangels (Gordon et al. 1955, Farrell et al. 1977). Bei erheblichem Mangel kann sich eine hämolytische Anämie mit verkürzter Lebenszeit der Erythrozyten aus-

bilden (Farrell et al. 1977). Gefährdet sind vor allem Frühgeborene, da sie zum einen über geringe Vitamin-E-Reserven verfügen (Djzu et al. 1952), zum anderen mit der Nahrung meist relativ große Mengen ungesättiger Fettsäuren erhalten. Da der Aufbau der Erythrozytenmembran-Lipide dem Angebot an Fettsäuren mit der Nahrung entspricht (Mulder et al. 1965), wird mehr Vitamin E zum Schutz vor Oxidierung benötigt (Horvitt et al. 1961, Horvitt 1976). Eisengaben bedeuten bei Vitamin-E-Mangel eine zusätzliche Gefährdung, da Eisen oxidierend wirkt (Melhorn et al. 1971, Williams et al. 1975). Das Krankheitsbild des Vitamin-E-Mangels bei Frühgeborenen ist gekennzeichnet durch Ödeme und normochrome hämolytische Anämie mit verkürzter Lebenszeit der Erythrozyten (Hassan et al. 1966, Oski u. Barness 1968, Ritchie et al. 1968, Gross u. Melhorn 1974).

2.4. Schutzeffekte von Vitamin E gegenüber Sauerstoff

Retrolentale Fibroplasie und bronchopulmonale Dysplasie werden auf toxische Sauerstoffwirkung zurückgeführt. Durch hohe Vitamin-E-Gaben (etwa 20 mg/kg/Tag) an Frühgeborene konnten das Auftreten von retrolentaler Fibroplasie (Johnson et al. 1974) und bronchopulmonaler Dysplasie (Ehrenkranz et al. 1977) vermindert werden.

3. VERSUCHSTIERE UND METHODEN

3.1. Versuchstiere

Untersucht wurden 60 Ferkel aus 12 Würfen (Deutsche Landrasse). Die Muttertiere wurden während der Gravidität mit der in Tabelle 1 angegebenen Diät ernährt. Die Diät ("Basalration") enthielt 6,2 ± 3,5 mg/kg Vitamin E. 6 Muttertiere erhielten zusätzliches Vitamin E in Form von 500 mg DL-alpha-Tocopherol pro Woche (Kontrollgruppe). Die übrigen 6 Muttertiere erhielten kein zusätzliches Vitamin E (Mangelgruppe).

Tabelle 1. Basalration (Schlotke et al. 1978)

Casein[1]	10
Paraffinhefe[2]	10
Sojaproteinkonzentrat[3]	12
Rotbarschöl[4]	10
Starterzucker[5]	6
Mineralstoffmischung[6]	6
Maisstärke, nativ[7]	45,2
Propylenglycol	0,1
Vitaminvormischung[8]	0,2
Ca-propionat	0,3
DL-Methionin	0,2
	100,0[9; 10, 11]

[1] Säurecasein A 90—100, Fa. Meggle, Wasserburg.
[2] Toprina®, BP; Versuch 1 und Versuch 2 / 1. Hälfte: mit Torula-Hefe.
[3] Haypro T.®, Fa. Ashdod Ltd. Israel.
[4] Versuch 1 und Versuch 2 / 1. Hälfte: mit Schweineschmalz; beide Fette vor dem Einmischen etwa 4 Tage bei 90 °C belüftet.
[5] Etwa 90 % Glucose, Fa. Maizena, Hamburg.
[6] Mineralstoffmischung enthält in 60 g (= pro kg Basalration): Fe-citrat: 0,79; $CuSO_4 \cdot 5H_2O$: 0,15; $MnSO_4 \cdot H_2O$: 0,24; $ZnCO_3$: 0,22; KJ: 0,015; $Ca_5(PO_4)_3OH$: 7,7; $CaHPO_4 \cdot 2H_2O$: 10,2; $CaCO_3$: 7,43; K_2HPO_4: 4,52; Na_2HPO_4: 7,4; NaCl: 9,8; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$: 10,94; Maisstärke, nativ: 0,595 g. Die Kontrollgruppe erhielt zusätzlich 1 mg Na Selenit/kg Basalration (Ausnahme: Versuch 1).
[7] Sirona®, Fa. Maizena, Hamburg.
[8] Vitaminvormischung enthält in 2 g (= pro kg Basalration) Vitamin A: 5000 I. E.; Vitamin D_3: 625 I. E.; Vitamin B_1: 12,5 mg; Vitamin B_2: 7,5 mg; Vitamin B_6: 5 mg; Vitamin B_{12}: 0,025 mg; Ca-Pantothenat: 7,5 mg; Nikotinsäure: 20 mg; Vitamin K_3: 1 mg; Cholinchlorid: 750 mg; Biotin: 0,075 mg; Folsäure: 1 mg; Maisstärke, nativ ad 2 g. Die Kontrollgruppe erhielt zusätzlich Vitamin E in Form von DL-α-Tocopherolacetat zugesetzt.
[9] Die Basalration wurde in einer Mischung von 70 Teilen Basalration und 30 Teilen Lupolen® (Polyäthylen, gekörnt, BASF) verfüttert.
[10] Analytisch ermittelter Vitamin-E-Gehalt der Basalration ohne Lupolen®: 6,2 ± 3,5 mg/kg (n = 20), entsprechend einer Gesamtmenge von 9,3 mg/Tier und Tag in den ersten 13 Graviditätswochen bis maximal 18,6 mg ab der 15. Woche.
[11] Analytisch ermittelter Rohnährstoffgehalt der Basalration: Rohprotein: 20,9; Rohfett: 10,9; Asche: 6,1; Ca: 1,02; P: 0,81; H_2O: 8,4.

Die Mangelgruppe entwickelte während der Schwangerschaft einen zunehmenden Vitamin-E-Mangel mit niedrigem Plasma-Vitamin-E-Gehalt. In der Kontrollgruppe blieb der Vitamin-E-Gehalt des Plasmas konstant oder stieg an. Der Vitamin-E-Gehalt des Kolostrums und der Milch lag in der Mangelgruppe um 2 µg/g, in der Kontrollgruppe um 12 µg/g (Tabelle 2). Die Ergebnisse der Vitamin-E-Analysen im Kolostrum der Muttertiere und im Plasma der Muttertiere (Tabelle 2) und Ferkel (Tabelle 3) finden sich bei Schlotke et al. (1978). Dort wird auch der Vitamin-E-Gehalt der Organe der untersuchten Ferkel mitgeteilt.

Tabelle 2.
Vitamin-E-Gehalt in Plasma (µg/ml), Kolostrum/Milch und Depotfett (µg/g) bei Muttersauen (Schlotke et al. 1978)

Gruppe	Plasma				Milch				Fett	
	Versuchsbeginn		Versuchsende		1. Tag		3./4. Tag			
Kontrolle	0.8	n = 8	1.3	n = 7	14.3	n = 3	11.1	n = 3	18.7	n = 7
Mangel	0.5	n = 10	0.5	n = 8	2.1	n = 9	1.4	n = 3	0.5	n = 11

Tabelle 3. µg α-Tocopherol/ml Plasma von Ferkeln (Schlotke et al. 1978)

Tag post partum / Gruppe	Vitamin E-Mangelgruppe 65 Ferkel aus 11 Würfen			Kontrollgruppe 42 Ferkel aus 7 Würfen	
1	$\bar{x}$ = 1.8	n = 8 s = 1.8		$\bar{x}$ = 1.5	n = 7 s = 0.8
3	$\bar{x}$ = 1.1	n = 10 s = 0.6		$\bar{x}$ = 2.3	n = 4 s = 1.9
4	$\bar{x}$ = 0.6	n = 17 s = 1.1	$p < 0.01$	$\bar{x}$ = 3.6	n = 10 s = 2.4
5	$\bar{x}$ = 0.6	n = 16 s = 0.4	$p < 0.05$	$\bar{x}$ = 3.6	n = 6 s = 1.9
6	$\bar{x}$ = 0.8	n = 10 s = 0.5	$p < 0.1$	$\bar{x}$ = 2.0	n = 6 s = 1.9
7	x_1 = 2.6 x_2 = 0.7	n = 2			
9				$\bar{x}$ = 1.8	n = 4 s = 0.5
10	x_1 = 1.2 x_2 = 1.9	n = 2			
12				$\bar{x}$ = 1.1	n = 5 s = 0.5

Wenn n = 2, dann sind die Meßwerte angegeben.

Die Ferkel blieben nach der Geburt bei der Muttersau mit freiem Zugang zum Gesäuge. Zum Versuch wurden die Ferkel in Barbiturat-Narkose (Inactin^R) laparotomiert und durch Einführen eines Katheters in die Aorta entblutet. Ein Teil des Blutes wurde in Plastikröhrchen aufgefangen, die pulverisiertes EDTA-K_2 enthielten, und für die hämatologischen Untersuchungen der vorliegenden Arbeit verwendet.

3.2. Methoden

3.2.1. Erythrozytenparameter

Die Bestimmung der Hämoglobinkonzentration erfolgte nach der Hämoglobincyanidmethode (Betke et al. 1964), die Zählung der Erythrozyten mit dem Coulter Counter^{R} (Witte 1978), die Bestimmung des Hämatokrits mit der Mikrozentrifuge. Der Hämatokrit wurde mit dem Faktor 0,98 mutipliziert, der das in der Erythrozytensäule verbleibende "trapped plasma" berücksichtigt (Linderkamp et al. 1974, Witte 1978).

Mittlerer Hämoglobingehalt (MCH), Hämoglobinkonzentration (MCHC) und Volumen der Erythrozyten (MCV) wurden nach folgenden Formeln berechnet:

$$\text{MCH (pg)} = \frac{\text{Hb (g/dl) x 10}}{\text{Ery } (10^6/\mu\text{l})}$$

$$\text{MCHC (g/dl)} = \frac{\text{Hb (g/dl)}}{\text{Hct (l/l)}}$$

$$\text{MCV (fl)} = \frac{\text{Hct (l/l) x 1000}}{\text{Ery } (10^6/\mu\text{l})}$$

3.2.2. Retikulozyten

Die Retikulozyten wurden nach Färbung mit Brillantkresylblau gezählt. Hierzu wurden in einer Leukozytenpipette Brillantkresylblau und Blut im Verhältnis 1:1 aufgezogen, in einem Paraffinschälchen vermischt und ca. 20 min in eine feuchte Kammer gestellt. Auf entfetteten Objektträgern wurden Ausstriche angefertigt und 20 min an der Luft getrocknet. Ausgezählt wurde auf jeweils 1000 Erythrozyten mit einer Okularblende nach Ehrlich unter Ölimmersion. Die Retikulozytenzahlen wurden in % der Erythrozyten angegeben.

3.2.3. Peroxid-Hämolyse

Die Peroxid-Hämolyse wurde nach den Angaben von Schneider (1976) bestimmt.
7,5 ml 2%-H_2O_2-Lösung wurden aus 0,5 ml 30%-H_2O_2-Lösung und 7,0 ml Phosphatpuffer (2,72 g/l KH_2PO_4 und 3,56 g/l Na_2HPO_4 im Verhältnis 1:1) hergestellt. Die Erythrozyten aus 1 ml EDTA-Blut wurden dreimal mit 0,9%-NaCl gewaschen und jeweils in der Kühlzentrifuge bei 2500 g zentrifugiert.
Eine 4%-Erythrozytensuspension wurde durch Mischen von 0,1 ml Erythrozyten mit 2,4 ml Phosphatpuffer hergestellt. Jeweils 0,25 ml der Suspension wurden in drei Teströhrchen

gefüllt (Testansatz - Leerwert - 100%-Hämolyse). Zum Testansatz wurden 0,25 ml 2%-H_2O_2 hinzugegeben. Anschließend wurde 3 Stunden bei 37°C im Brutschrank inkubiert. Nach der Inkubation kamen

zum Leerwert: 4,75 ml Phosphatpuffer

Testansatz 4,5 ml Phosphatpuffer

100%-Hämolyse: 4,75 ml aqua destillata.

Nach Durchmischung wurde 5 min bei 2500 g in der Kühlzentrifuge zentrifugiert und die Extinktionen der Überstände bei 540 nm (gegen aqua dest.) photometriert.
Die relative Peroxid-Hämolyse wurde nach folgender Formel berechnet:

$$\text{Peroxid-Hämolyse (\%)} = \frac{E\ (\text{Test}) - E\ (\text{Leerwert})}{E\ (100\%\text{-Hämolyse})} \times 100$$

(E = Extinktion)

3.2.4. Erythrozytendichte

Die Bestimmung der mittleren Erythrozytendichte erfolgte durch Untersuchung der Dichteverteilung im Phthalsäureestergradienten (Danon u. Marikovsky 1964, Schulz et al. 1978). Phthalsäureester wirken stark hydrophob, so daß sich weder Plasma noch Erythrozyten mit ihnen vermischen. Durch Mischung von Phthalsäuredibutylester ($C_{16}H_{22}O_4$, Dichte bei 20°C 1,046) und Phthalsäuredimethylester ($C_{10}H_{10}O_4$, Dichte bei 20°C 1,190) lassen sich Dichten von 1,046 bis 1,190 herstellen.

Wird ein Phthalsäureester bestimmter Dichte in eine Hämatokritkapillare gebracht und mit Blut überschichtet, so werden bei üblicher Zentrifugation bei 12 000 g in der Mikrozentrifuge die dichteren Erythrozyten nach peripher geschleudert, während die weniger dichten Erythrozyten, die Leukozyten (Dichte: 1,070 - 1,080) und das Plasma (Dichte: 1,025 - 1,029) zentral verbleiben (Abb. 1).

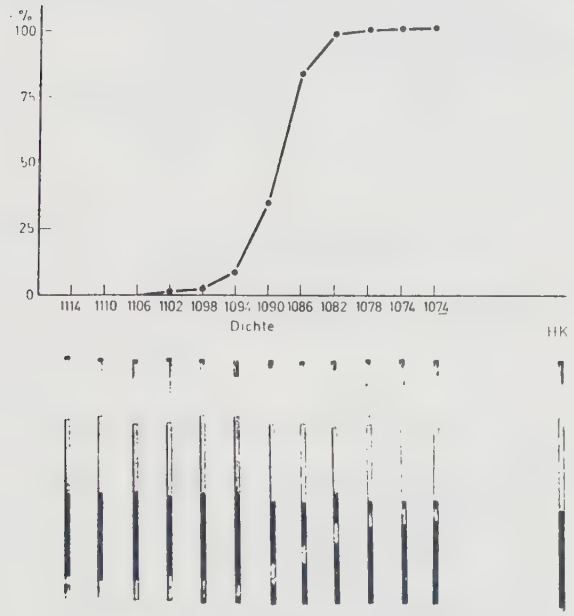

Abb. 1. Hämatokritkapillaren nach Zentrifugation, die Phthalsäureestergemische abnehmender Dichte und Blut der gleichen Probe enthalten. Die Erythrozyten wandern mit abnehmender Dichte zunehmend nach peripher ("unten"). Darüber die zugehörige Kurve, die den Anteil der peripher liegenden Erythrozyten widergibt (nach Schulz et al. 1978).

Die Hämatokritkapillaren wurden zu etwa 5 mm mit Phthalatester und anschließend zu etwa 50 mm mit Blut gefüllt. Das freie Ende wurde zugeschmolzen. Die Zentrifugationszeit betrug 10 min. Zu jeder Untersuchung wurden 12 Kapillaren mit Phthalsäureestergemischen mit einer Dichte von 1,070 bis 1,114 gefüllt, nach Zentrifugation die Länge der peripheren und zentralen Erythrozytensäulen mit der Schubleere gemessen und der Anteil der peripheren, d.h. dichteren, Erythrozyten in % der gesamten Erythrozytensäule gegen die Dichte des Phthalsäureestergemisches aufgetragen (Abb.1 und 2). Aus der s-förmigen Kurve wurde die 50%- ("mittlere") Dichte abgelesen.

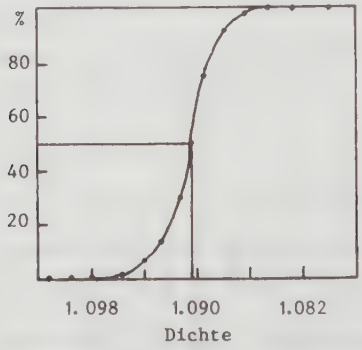

Abb. 2. Anteil der dichteren Erythrozyten aufgetragen gegen die Dichte der Phthalsäureestergemische. Dieses Beispiel einer eigenen Untersuchung ergibt eine 50%-Dichte der Erythrozyten von 1,091.

3.2.5. Viskosität

Die Viskosität wurde mit einem Kegel-Platte-Viskosimeter (Wells et al. 1961; Wells-Brookfield Microviscometer^{R}) gemessen. Bei diesem Gerät rotiert ein flacher Kegel auf einer ebenen Platte. Der Schergrad hängt von der Umdrehungszahl des Kegels ab. Mit steigender Viskosität des zwischen Kegel und Platte eingebrachten Blutes wirkt eine zunehmende Kraft (Drehmoment) auf den rotierenden Kegel ein, so daß keine Bremswirkung entsteht. Aus den "Skalenteilen" wird die Viskosität berechnet.

Die Viskosität wurde innerhalb von zwei Stunden nach Entnahme der Blutprobe bei den Schergraden 230, 115, 46 und 23 sec^{-1} bestimmt. Die Eichung des Gerätes erfolgte mit einem Eichöl.

Der Hämatokrit der Blutproben wurde zur Messung der Viskosität auf 0,60 l/l eingestellt. Hierzu wurden die Blutproben bei 1000 g zentrifugiert, das Plasma und die Leukozyten entfernt und 1 ml Erythrozyten mit 0,6 ml des zugehörigen Plasmas vermischt. Wenn der Hämatokrit um mehr als $\pm$0,01 von 0,60 abwich, wurde durch Zugabe von Plasma bzw. Erythrozyten erneut eingestellt, bis der gewünschte Hämatokrit erreicht war.

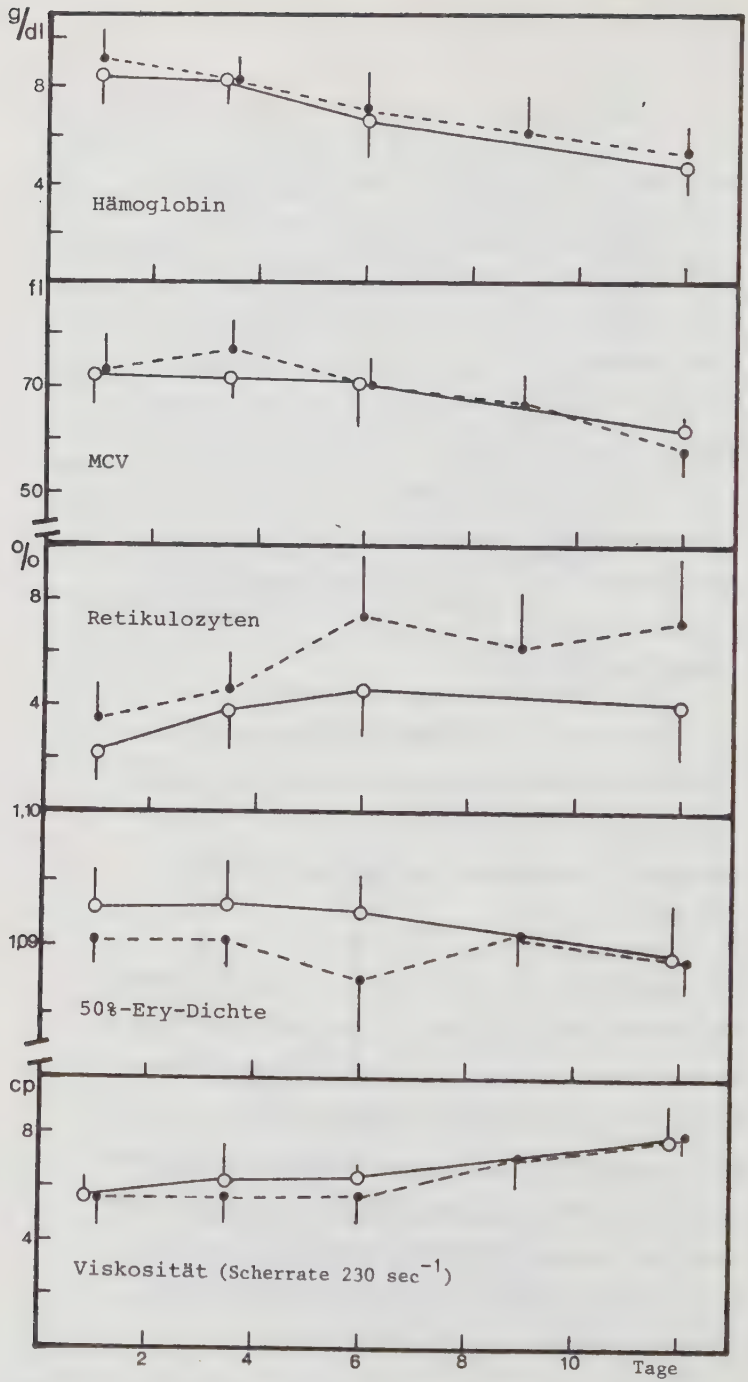

Abb. 3. Altersabhängiger Verlauf einiger hämatologischer Parameter. Punkte: Kontrolltiere; Kreise: Vitamin-E-Mangel

4. ERGEBNISSE

Der altersabhängige Verlauf der untersuchten hämatologischen Parameter geht aus Tabelle 4 und Abbildung 3 hervor.

Hämoglobin, Erythrozytenzahlen und Hämatokrit nahmen bei den Ferkeln ohne Vitamin-E-Mangel (Kontrollgruppe) und mit Vitamin-E-Mangel (Mangelgruppe) während der ersten 12 Lebenstage ab. Gleichzeitig entwickelten die Tiere eine Mikrozytose mit abnehmendem Volumen (MCV) und Hämoglobingehalt (MCH) der Erythrozyten, während sich die erythrozytäre Hämoglobinkonzentration (MCHC) kaum änderte. Hinsichtlich der Erythrozytenparameter verhielten sich die beiden Gruppen gleich.
Die Retikulozyten stiegen im Untersuchungszeitraum an. Dabei lagen die Retikulozyten der Mangeltiere stets niedriger als die in der Kontrollgruppe ($p < 0{,}001$).

Die mittlere Erythrozytendichte war in der Mangelgruppe signifikant ($p < 0{,}001$) höher als in der Kontrollgruppe. Sie nahm im Verlauf der ersten 12 Lebenstage leicht ab.
Die Blutviskosität stieg in beiden Gruppen

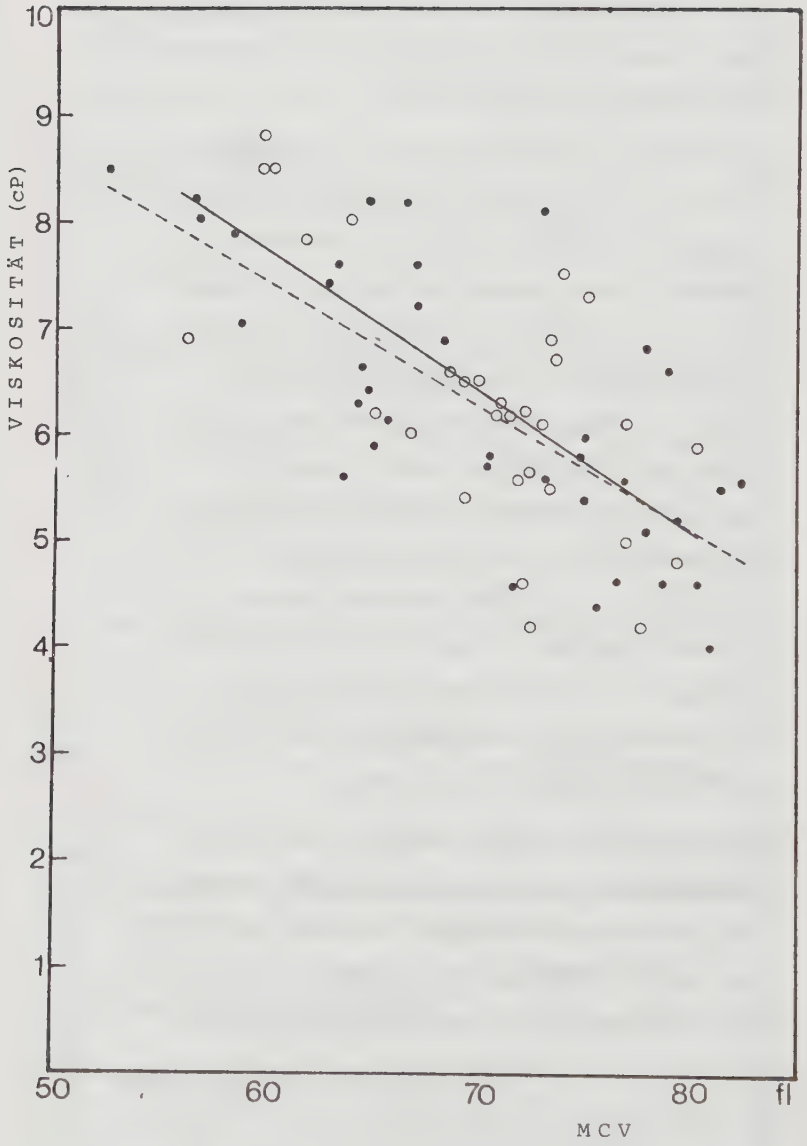

Abb. 4. Beziehung von Viskosität (Scherrate 230 sec^{-1}) und MCV.
o --- Kontrolltiere; o —— Vitamin-E-Mangel

mit dem Alter an. Die Peroxidhämolyse lag in der Kontrollgruppe um 2-5 %. Bei den Mangeltieren stieg sie von etwa 15 % am ersten Tag auf über 50 % am 12. Tag an.

Die signifikanten Regressionsgleichungen sind in Tabelle 5 zusammengestellt. Die Viskosität zeigte in beiden Gruppen bei den Scherraten 230 und 23 sec^{-1} signifikante negative Beziehungen zum MCV (Abb. 4; $p < 0,001$) und positive Beziehungen zur mittleren Erythrozytendichte, die allerdings nur in der Kontrollgruppe signifikant ($p < 0,05$; Abb. 5) waren. Zwischen der mittleren Erythrozytendichte und der Retikulozytenzahl bestanden negative Beziehungen ($p < 0,01$; Abb. 6).
Keine signifikanten ($p > 0,1$) Beziehungen zeigten MCHC, MCV und mittlere Erythrozytendichte sowie Viskosität und MCHC.

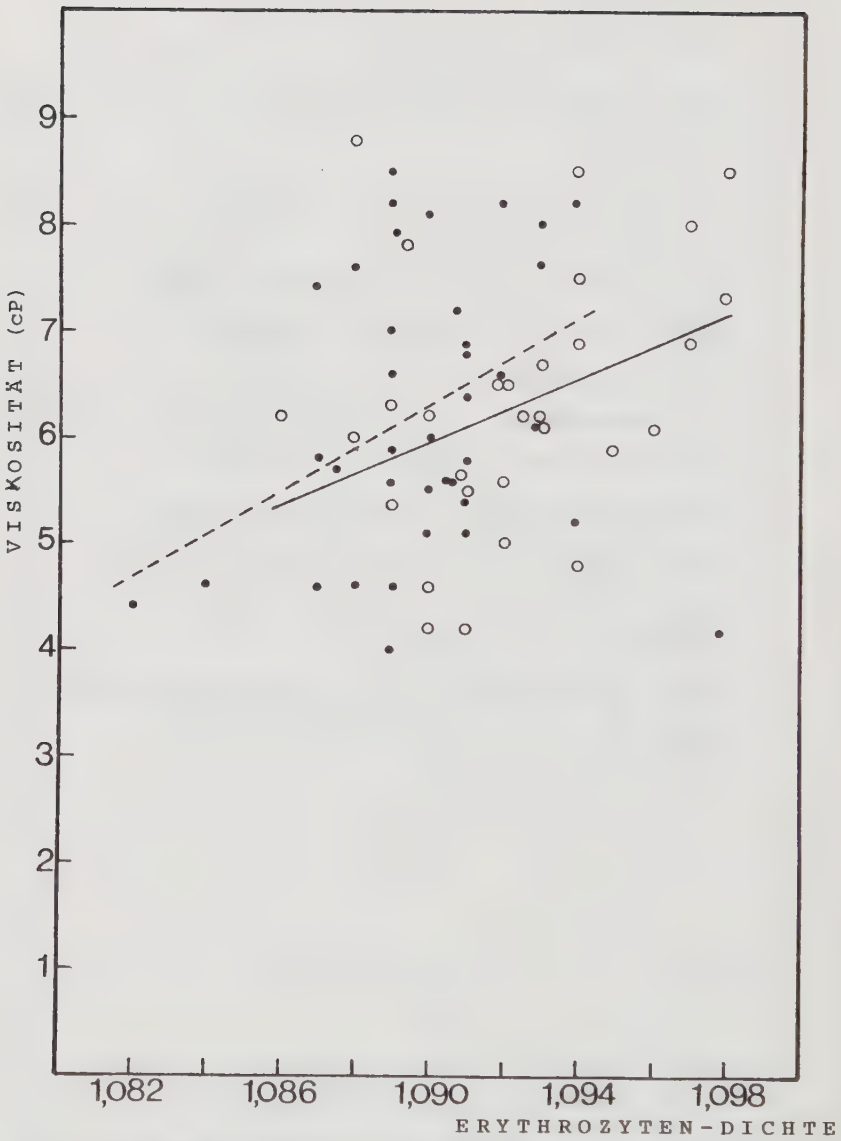

Abb. 5. Beziehung von Viskosität (Scherrate 230 sec^{-1}) und Erythrozytendichte. o --- Kontrolltiere; o —— Vitamin-E-Mangel

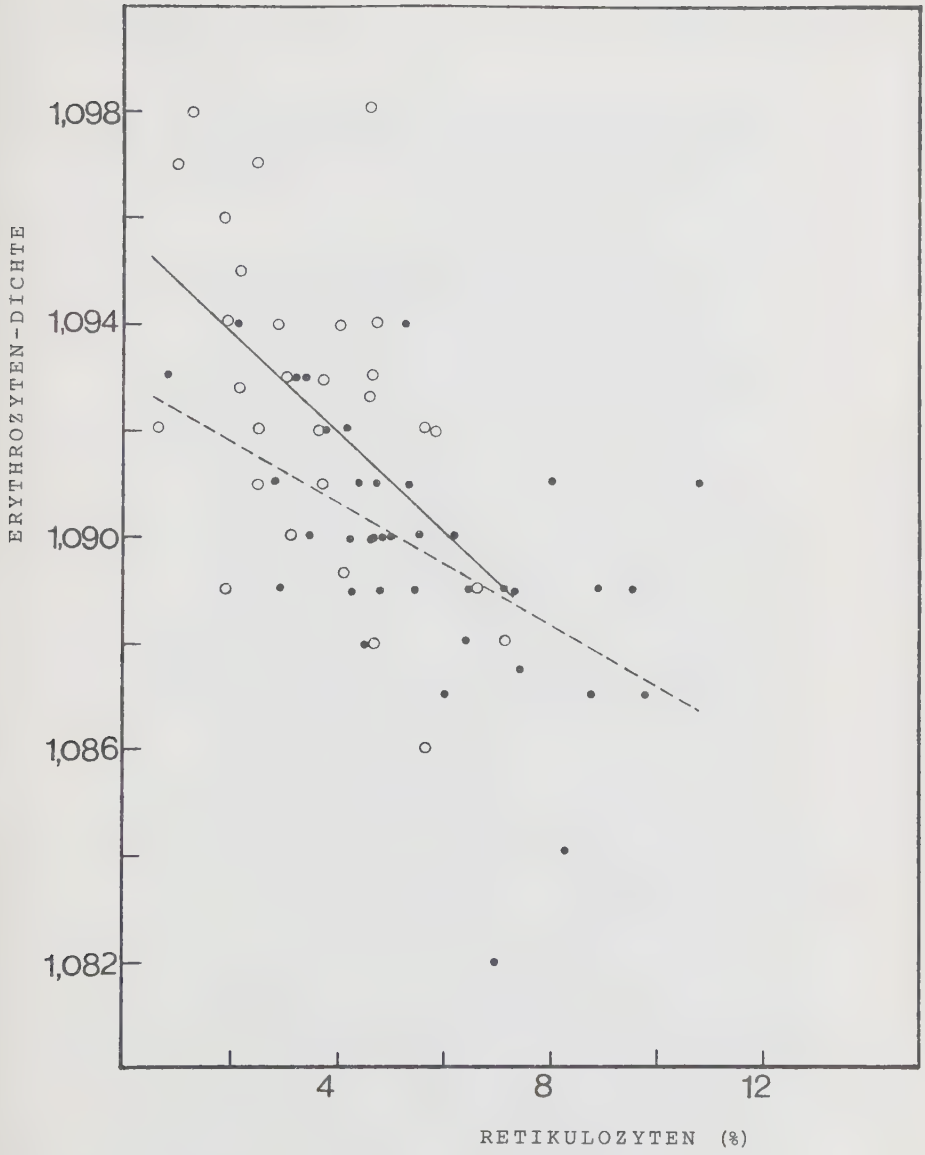

Abb. 6. Beziehung von Erythrozytendichte und Retikulozytenzahl.
o --- Kontrolltiere; o —— Vitamin-E-Mangel

5. DISKUSSION

Die untersuchten Ferkel entwickelten im Verlauf der ersten 12 Lebenstage eine zunehmende mikrozytäre Anämie. Dieses Verhalten ist gut bekannt (Furugouri et al. 1968, Walser u. Schwarz 1969,Furugouri 1974, Harmon et al. 1974, Roth 1976) und resultiert aus der Entwicklung eines Eisenmangels der im Stall ohne Eisensubstitution gehaltenen Ferkel.
Die Zunahme der Retikulocyten während der ersten Lebenstage, die auch von anderen Autoren beobachtet wurde (Furugouri et al. 1968, Roth 1976), reicht bei schwerem Eisenmangel offensichtlich nicht aus, um die Anämie zu verhindern. Frühzeitige Eisengabe führt zu weitaus steilerem Anstieg der Retikulozyten und verhütet die Anämie (Harmon et al. 1974, Roth 1976). Offensichtlich ist der Erythrozytenumsatz neugeborener Ferkel hoch (Furugouri 1974), die Erythrozytenlebenszeit kurz (Roth 1976).

Die Tiere mit Vitamin-E-Mangel entwickelten keine schwerere Anämie als die Kontrolltiere, obgleich ihre Retikulozytenzahl deutlich niedriger und die Peroxidhämolyse erhöht war. Zu dem gleichen Befund kamen Baustad u. Nafstad (1972).

Die Erythrozytenlebenszeit dürfte dennoch

gegenüber den Kontrolltieren nicht verkürzt gewesen sein.
Wahrscheinlich war der Vitamin-E-Mangel nicht so ausgeprägt, um eine hämolytische Anämie zu verursachen.

Die mittlere Erythrozytendichte zeigte signifikante negative Beziehungen zur Retikulozytenzahl. Dies bedeutet, daß ein hoher Anteil junger Erythrozyten mit abnehmender Erythrozytendichte einhergeht. Tatsächlich nimmt die Erythrozytendichte mit dem Alter der Erythrozyten zu (Piomelli et al. 1967). Furugouri et al. (1968) zeigten ebenfalls eine umgekehrte Beziehung von Erythrozytendichte und Retikulozyten bei Ferkeln. Die höhere Erythrozytendichte bei den Tieren mit Vitaminmangel läßt sich somit durch ihre geringeren Retikulozytenzahlen erklären.
Die Viskosität der auf einen Hämatokrit von 0,60 eingestellten Blutproben zeigte enge umgekehrte Beziehungen zum MCV. Mikrozytose wirkt sich also ungünstig auf die rheologischen Eigenschaften der Erythrozyten aus. Die Viskosität hängt von der Deformierbarkeit und Aggregation der Erythrozyten ab (Schmid-Schönbein et al. 1969). Bei den in der vor-

liegenden Arbeit gewählten Scherraten von 23 bis 230 sec^{-1} entscheidet im wesentlichen die Deformierbarkeit der Erythrozyten über die Viskosität. Bei niedrigeren Scherraten hängt die Viskosität in erster Linie von der Aggregation ab.

Durch Einstellung des Hämatokrits auf einen konstanten Wert lassen sich die Viskositäten verschiedener Blutproben vergleichen und erlauben je nach gewählter Scherrate eine Aussage über Deformierbarkeit bzw. Aggregation der Erythrozyten (Schmid-Schönbein et al. 1969). Durch Eisenmangel entstandene Mikrozyten sind also nach den eigenen Untersuchungen weniger deformierbar als Normozyten.

Verminderte Deformierbarkeit von Eisenmangel-Mikrozyten wurde bei Kindern durch Messung der Viskosität bei einem Hämatokrit von 0,60 (Klose et al. 1976, Linderkamp et al. 1976) und bei Kaninchen mit der Filtrationsmethode (Card u. Weintraub 1971) nachgewiesen. Außerdem ist die Packbarkeit von Mikrozyten vermindert, so daß nach Zentrifugation ein höheres "trapped plasma" zwischen den Erythrozyten verbleibt (Hellerstein et al. 1970, England et al. 1972, Witte 1978).

Die geringere Deformierbarkeit von Mikrozyten

beeinflußt die Fließeigenschaften des Blutes bei gleichzeitig bestehender Anämie nicht wesentlich. Sie führt aber zu gesteigerter Destruktion der Erythrozyten in der Milz, so daß die Lebenszeit abnimmt (Card u. Weintraub 1971) und die Anämie verstärkt wird.

Neben dem MCV zeigte die Erythrozytendichte einen deutlichen Einfluß auf die Viskosität. Da die Erythrozytendichte ein Maß für das Alter der Erythrozyten darstellt (Piomelli et al. 1967), steht dieses Ergebniss im Einklang mit dem Befund verminderter Deformierbarkeit alter Erythrozyten (Brereton u. Murphy 1974).
Die Wirkung der Erythrozytendichte auf die Viskosität war unabhängig von der des MCV, da zwischen dem MCV und der Erythrozytendichte keine Beziehung bestand.
Vitamin-E-Mangel war ohne Einfluß auf die Viskosität. Levander et al. (1977 a, b, 1978) fanden nur bei gleichzeitigem Vitamin-E-Mangel und Bleivergiftung eine herabgesetzte Deformierbarkeit der Erythrozyten. Vitamin-E-Mangel zeigt nach den eigenen Ergebnissen keinen zusätzlichen ungünstigen Effekt auf die rheologischen Eigenschaften von Erythrozyten. Die hämolytische Anämie als Folge von Vitamin-E-Mangel entsteht also allein durch oxidative Schädigung der Membranen.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Aufgabe der vorliegenden Arbeit war, den Einfluß von Vitamin-E-Mangel bei neugeborenen Ferkeln auf hämatologische Parameter zu untersuchen. Insbesondere sollte untersucht werden, ob neben der Erythrozytengröße (MCV) und -dichte Vitamin-E-Mangel die Blutviskosität beeinflußt.

Untersucht wurden 33 Ferkel ohne Vitamin-E-Mangel (Kontrollgruppe, E+) und 27 Ferkel, die aufgrund Vitamin-E-armer Ernährung der Muttertiere einen Vitamin-E-Mangel entwickelten (Mangelgruppe, E-). Das Alter der Tiere betrug 1 - 12 Tage.
Gemessen wurden Hämoglobinkonzentration, Erythrozytenzahl, Hämatokrit, Retikulozytenzahl, Peroxid-Hämolyse, mittlere Erythrozytendichte (Phthalsäureester-Gradient) und Blutviskosität (Kegel-Platte-Viskosimeter). Die Viskosität wurde mit Blut, dessen Hämatokrit auf $0{,}60 \pm 0{,}01$ l/l eingestellt war, untersucht.

Hämoglobinkonzentration, Erythrozytenzahl, Hämatokrit, MCV und MCH nahmen als Folge von Eisenmangel in beiden Gruppen mit dem Alter ab, die Retikulozytenzahl und Viskosität zu. Signifikante Unterschiede ($p < 0{,}001$) zwischen der Mangel- und Kontrollgruppe wurden hinsichtlich

der Retikulozytenzahl (E-: 3,56 ± 1,70 %; E+: 5,55 ± 2,35 %), der Erythrozytendichte (E-: 1,0924 ± 0,0032; E+: 1,0898 ± 0,0026) und der Peroxid-Hämolyse (E-: 27,5 ± 19,1 %; E+: 3,0 ± 2,2 %) gefunden.

Signifikante Beziehungen bestanden zwischen der Viskosität und dem MCV (Scherrate 230 sec^{-1}: E-: $r = -0,65$; E+: $r = -0,72$; Scherrate 23 sec^{-1}: E-: $r = -0,60$; E+: $r = -0,73$; p stets $< 0,001$), zwischen der mittlere Erythrozytendichte und der Retikulozytenzahl (E-: $r = -0,51$; E+: $r = -0,53$; $p < 0,01$) sowie bei den Kontrolltieren zwischen der Viskosität und der mittleren Erythrozytendichte (E+: Scherrate 230 und 23 sec^{-1}: $r = 0,40$; $p < 0,05$; E-: Scherrate 230 sec^{-1}: $r = 0,38$; $p < 0,1 > 0,05$; Scherrate 23 sec^{-1}: $r = 0,31$; $p > 0,1$).
Keine signifikanten Beziehungen ($p > 0,01$) zeigten MCH, MCV und mittlere Erythrozytendichte sowie Viskosität und MCHC.

Nach diesen Ergebnissen beeinflußt in erster Linie das MCV, daneben die Erythrozytendichte die Blutviskosität. Vitamin-E-Mangel besitzt keinen zusätzlichen Einfluß auf die Viskosität.

Tabelle 4. Hämatologische Daten der untersuchten Tiere

Alter (Tage)	*	n	Hb (g/dl)	Ery (10^6/µl)	Hct (1/1)	MCH (pg)	MCHC (g/dl)	MCV (fl)	Retik. (%)	Ery-Dichte	Viskosität (cP) SR 230	Viskosität (cP) 23 sec^{-1}	Peroxyd-Hämolyse (%)
1	E+	8	9,1±1,2	4,09±0,51	0,297±0.029	22,4±2,6	30,7±1,5	73,1±7,1	3,48±1,34	1,0904±0,0018	5,59±0,99	11,91±2,04	5,1± 2,7
	E-	8	8,4±1,2	3,85±0,71	0,277±0,043	22,1±1,9	30,6±1,4	72,4±5,8	2,18±0,96	1,0928±0,0029	5,65±0,77	13,31±2,97	14,3± 8,2
3-4	E+	8	8,3±1,0	3,51±0,58	0,268±0,037	23,8±2,5	30,9±1,5	76,9±5,4	4,66±1,31	1,0904±0,0021	5,59±1,101	11,81±2,86	3,7± 1,3
	E-	8	8,3±1,2	3,73±0,38	0,267±0,033	22,2±1,4	31,0±1,4	71,6±3,5	3,75±1,61	1,0930±0,0033	6,19±1,42	12,00±3,07	12,3± 5,8
6-7	E+	6	7,0±1,7	3,27±0,69	0,231±0,055	21,3±2,0	30,1±0,5	70,4±5,8	7,47±2,26	1,0875±0,0030	5,73±1,02	13,15±2,57	0,9± 0,5
	E-	8	6,9±1,6	3,12±0,97	0,216±0,044	22,5±3,4	31,7±2,4	70,9±7,6	4,55±1,66	1,0926±0,0028	6,20±0,66	13,54±1,71	39,2±12,8
9	E+	6	6,1±1,5	2,99±0,47	0,202±0,042	20,3±2,8	30,1±2,1	67,2±5,9	6,25±2,0	1,0908±0,0020	7,20±1,14	16,20±2,48	2,2± 1,2
12	E+	5	5,3±1,2	2,91±0,61	0,171±0,040	18,0±1,9	30,9±1,9	58,5±4,7	7,12±2,56	1,0892±0,0023	7,94±0,44	16,38±0,59	2,0± 1,6
	E-	3	4,8±1,1	4,80±1,06	0,173±0,043	17,3±0,8	27,9±1,0	61,8±3,0	4,07±1,85	1,0893±0,0042	7,83±1,42	15,73±1,8	56,9± 8,5
1-12	E+	33	7,4±1,9	3,45±0,68	0,241±0,059	21,5±3,0	30,6±1,5	70,2±8,2	5,55±2,35	1,0898±0,0026	6,26±1,31	13,57±2,96	3,0± 2,2
	E-	27	7,5±1,7	3,48±0,79	0,244±0,053	21,7±2,7	30,7±2,0	70,5±6,2	3,56±1,70§	1,0924±0,0032§	6,33±1,24	13,26±2,67	27,5±19,1§

* E+ = Kontrollgruppe; E- = Vitamin-E-Mangelgruppe; § p 0,001 verglichen mit der Kontrollgruppe (t-Test)

Tabelle 5. Regressionsgleichungen*

	Regressionsgleichung	s_{yx}	r	Signifikanz von r gegen 0 ($p <$)
E+	D = -0,0005776 Ret + 1,0930	0,0023	-0,531	0,01
E-	D = -0,0009432 Ret + 1,0958	0,0028	-0,506	0,01
E+	V (230) = -0,1157 MCV + 14,39	0,92	-0,724	0,001
E-	V (230) = -0,1299 MCV + 15,49	0,96	-0,652	0,001
E+	V (23) = -0,2637 MCV + 32,08	2,06	-0,730	0,001
E-	V (23) = -0,2556 MCV + 31,29	2,18	-0,597	0,001
E+	V (230) = 201,89 D - 213,75	1,22	0,401	0,05
E-	V (230) = 148,74 D - 156,16	1,17	0,379	0,1
E+	V (23) = 452,30 D - 479,32	2,76	0,398	0,05
E-	V (23) = 259,20 D - 269,89	2,59	0,308	>0,1

* E+ = Kontrollgruppe; E- = Mangelgruppe; V (230) = Viskosität bei Scherrate 230 sec^{-1}; V (23) = Viskosität bei Scherrate 23 sec^{-1}; D = Erythrozytendichte; Ret = Retikulozytenzahl

8. LITERATURVERZEICHNIS

1. BAUSTAD, B., NAFSTAD, I.:
Hematological response to vitamin E in piglets.
Br. J. Nutr. 28: 183 (1972).

2. BETKE, K.:
Hämatologie der ersten Lebenszeit.
Ergeb. Inn. Med. Kinderheilkd. N. F.
9: 437 (1958).

3. BETKE, K.:
Haushalt und Regulation des Blutfarbstoffs im Kindesalter.
Arch. Kinderheilkd. 159: 51 (1959).

4. BETKE, K., KLEIHAUER, E., PETER, H., POSER, G., SCHICHT, I.:
Rote Blutwerte bei gesunden Kindern aus Familien und aus Heimen.
Dtsch. Med. Wochenschr. 25: 1197 (1964).

5. BIERI, J.:
Vitamin E.
Nutr. Rev. 33: 161 (1975).

6. BÖHLES, H.:
Vitamin E in der Kinderheilkunde.
Klin. Paediatr. 190: 226 (1978).

7. BRERETON, W., MURPHY, J.R.:
Rheologic studies of deoxygenated normal and hereditary spherocytosis blood and seperated erythrocytes.
J. Lab. Clin. Med. 83: 112 (1974).

8. CAASI, P.I., HAUSWIRTH, J.W., NAIR, P.P.:
Biosynthesis of heme in vitamine E deficiency.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 203: 93 (1972).

9. CARD, R.T., WEINTRAUB, L.R.:
Metabolic abnormalities of erythrocytes
in severe iron deficiency.
Blood 37: 725 (1971).

10. CARRELL, R.W., WINTERBOURN, C.C., RACHMILEWITZ, E.A.:
Activated oxygen and haemolysis.
Br. J. Haematol. 30: 259 (1975).

11. DANON, D., MARIKOVSKY, Y.:
Determination of density distribution of
red cell population.
J. Lab. Clin. Med. 64: 668 (1964).

12. DJZU, M.Y., MASON, K.E., FILDER L.J.:
Vitamin E (tocopherol) in human fetuses
and placenta.
Etudes Neonatales 1: 19 (1952).

13. EHRENKRANZ, R.A., BONTA, B.W., ABLOW, R.C., WARSHAW, J.B.:
Evidence for amelioration of broncho-
pulmonary dysplasia following vitamin E
administration.
Pediatr. Res. 11: 569 (1977).

14. ENGLAND; J.M., WALFORD, D.M., WATERS, D.A.W.:
Re-assessment of the reliability of the
haematocrit.
Br. J. Haematol. 23: 247 (1972).

15. FARRELL, P.M., BIERI, J.G., FRATANTONI, J.F., WOOD, R.E., DI SANT'AGNESE, P.A.:
The occurrence and effects of human vitamin E deficiency.
J. Clin. Invest. 60: 233 (1977).

16. FURUGOURI, K.:
Kinetics in iron metabolism in piglets.
J. Anim. Sci. 38: 1249 (1974).

17. FURUGOURI, K., ISHI, T., TOHARA, S.:
Variation in erythrocytes and blood specific gravity in the growing piglets.
Bull. Natl. Inst. Anim. Industry 16: 51 (1968).

18. GORDON, H.H., NITOWSKI, H.M., CORNBLATH, M.:
Studies of tocopherol deficiency in infants and children.
Am. J. Dis. Child. 90: 669 (1955).

19. GROSS, S., MELHORN; D.K.:
Vitamin E-dependent anemia in the premature infant.
J. Pediatr. 85: 753 (1974).

20. HARMON, B.G., CORNELIUS, S.G., TOTSCH, J., BAKER, D.H., JENSEN, A.H.:
Oral iron dextran and iron from steel slats as hematinics for swine.
J. Anim. Sci. 39: 699 (1974).

21. HASSAN, H., HASHIM, S.A., VAN ITALIE, T.B., SEBRELL, W.H.:
Syndrome in premature infants associated with low plasma vitamin E levels and high polyunsaturated fatty acid diet.
Am. J. Clin. Nutr. 19: 147 (1966).

22. HELLERSTEIN, S., SEES, W., SURAPATHANA, L.:
Hemoglobin concentration and erythrocyte cation content.
J. Lab. Clin. Med. 76: 10 (1970).

23. HORWITT, M.K.:
Vitamin E: a reexamination.
Am. J. Clin. Nutr. 29: 569 (1976).

24. HORWITT, M.K., HARVEY, C.C., CENTURY, B., WITTING, L.A.:
Polyunsaturated lipids and tocopherol requirements.
J. Am. Diet. Assoc. 38: 231 (1961).

25. JOHNSON, L., SCHAFFNER, D., BOGGS, T.R.:
The premature infant, vitamin E deficiency and retrolental fibroplasia.
Am. J. Clin. Nutr. 27: 1158 (1974).

26. KLOSE, H., LINDERKAMP, O., v. GOSEN, L., BETKE, K.:
Rheologische Untersuchungen von Eisenmangel-Erythrozyten (Abstrakt).
Blut 33: 203 (1976).

27. LEVANDER, O.A., MORRIS, V.C., FERRETTI, R.J.:
Comparative effects of selenium and vitamin E in lead-poisoned rats.
J. Nutr. 107: 378 (1977 a).

28. LEVANDER, O.A., MORRIS, V.C., FERRETTI, R.J.:
Effect of oxidants, hydrazines, and aminoquinolines on the filterability of erythrocytes from vitamin E-deficient lead-poisoned rats.
J. Nutr. 107: 2135 (1977 b).

29. LEVANDER, O.A., MORRIS, V.C., FERRETTI, R.J.:
Effect of cell age on the filterability of erythrozytes from vitamin E-deficient lead-poisoned rats.
J. Nutr. 108: 145 (1978).

30. LINDERKAMP, O., MAYR, S., SENGESPEIK, C., KLOSE, H., BETKE, K.:
Eisenmangel bei Vorliegen von zyanotischen Herzvitien: Eine Ursache für zerebrale Komplikationen.
Monatsschr. Kinderheilkd. 124: 301 (1976).

31. LINDERKAMP, O., RQTH, G., SENGESPEIK, C., VERSMOLD, H., RIEGEL, K.:
Blutvolumen, Serumeisen und Erythrozyten-parameter von ausgetragenen, früh abgenabelten Säuglingen im ersten Lebensjahr.
Klin. Paediatr. 186: 511 (1974).

32. MELHORN, D.K., GROSS, S., CHILDERS, G.:
Vitamin E-dependent anemia in the premature infant. I. Effects of large doses of medical iron.
J. Pediatr. 79: 569 (1971).

33. MULDER, E., VAN DEENAN, L.L.M.:
Metabolism of red cell lipids. I. Incorporation in vitro of fatty acids into phospholipids from mature erythrocytes.
Biochim. Biophys. Acta 106: 106 (1965).

34. OSKI, F.A., BARNESS, L.A.:
Hemolytic anemia in vitamin E deficiency.
Am. M. Clin. Nutr. 21: 45 (1956).

35. PIOMELLI, S., LURINSKY, G., WASSERMAN, L.R.:
The mechanism of red cell aging. I.
Relationship between cell age and specific
gravity evaluated by ultracentrifugation
in a discontinuous density gradient.
J. Lab. Clin. Med. 69: 659 (1967).

36. ROTH, G.:
Die postnatalen Änderungen von Hämoglobin-
konzentration, Blutvolumen und 2,3-Diphospho-
glycerat in Erythrozyten bei normalen und
anpassungsgestörten Ferkeln.
Inaugural-Dissertation München (1976).

37. SCHLOTKE, B., BUSCH, L., KOCH, F.:
Untersuchungen zum Einfluß Vitamin-E-armer
Ernährung bei Sauen während der Gravidität
auf den Vitamin-E-Status der Ferkel in der
Neugeborenenphase.
Zentralbl. Veterinaermed. 25: 474 (1978).

38. SCHMID-SCHÖNBEIN, H., WELLS, R., GOLDSTONE,
J.:
Influence of deformability of human red cells
upon blood viscosity.
Circ. Res. 25: 131 (1969).

39. SCHNEIDER, K.:
Differentialdiagnose von neonataler Hepatitis
und kongenitaler Gallengangsatresie mit Hilfe
des H_2O_2-in-vitro-Hämolyse-Tests.
Inaugural-Dissertation München (1976).

40. Schulz, D., Rothenhöfer, C., Faul, A.:
Fraktionierung menschlicher Erythrozyten nach
ihrem Sedimentationsverhalten im Schwerefeld.
I. Methodische Untersuchungen.
Mschr. Kinderheilkd. 126, 607 (1978).

41. TAPPEL, A.L., ZALKIN, H., CALDWELL, K.A., DESAI, J.D., SHIBKO, S.:
Increased lysosomal enzymes in genetic muscular dystrophy.
Arch. Biochem. 96: 340 (1962).

42. WALSER, K., SCHWARZ, V.:
Untersuchungen zur mutterlosen Ferkelaufzucht mit Fruminal komplett.
2. Mitteilung: Das rote Blutbild der Ferkel.
Tierärztl. Umschau 24: 431 (1969).

43. WELLS, R.E., DENTON, R., MERRIL, E.W.:
Measurement of viscosity of biologic fluids by cone plate viscosimeter.
J. Lab. Clin. Med. 57: 646 (1961).

44. WILLIAMS, M.L., SHOTT, R.J., O'NEIL P.L., OSKI, F.A.:
Role of dietary iron and fat on vitamin E deficiency anemia of infancy.
N. Engl. J. Med. 292: 887 (1975).

45. WITTE, A.:
Zur Frage der Zuverlässigkeit der Ermittlung von Hämatokrit und mittlerem Erythrozyteneinzelvolumen (MCV) im elektronischen Messgerät (Coulter Counter): Vergleichende Untersuchungen an normo-, makro- und mikrozytären Erythrozyten.
Inaugural-Dissertation München (1978).

LEBENSLAUF

Name	: Joakim Moerbiarto ONGKOWIDJAJA
Geburtsdatum/-ort	: 16.11.1944 in Palembang/Indonesien
Name des Vaters	: G. S. Ongkowidjaja
Name der Mutter	: Gueen Ling Kwee
Staatsangehörigkeit	: Indonesisch
Beruf des Vaters	: Kaufmann
Schulausbildung	: Volksschule in Palembang (1951-1957)
	Mittelschule in Palembang (1957-1960)
	Oberschule in Jakarta - Abitur 1964
Anreise nach Deutschland	: Dezember 1967
Studium	: Studienkolleg a.d. Univ. München 1969-70
	Ab S.S. 1970 Human Medizin a.d. Univ. München
	Vorphysikum : Oktober 1971
	Physikum : April 1974
	Staatsexamen: Oktober 1977
Medizinalassistentenzeit	: Okt.-Dez. 1977 Krankenhaus Grafenau
	Apr.-Dez. 1978 Kreiskrankenhaus Mallersdorf

DANKSAGUNG

Herrn Prof. Riegel und Herrn Priv.-Doz. Dr. Linderkamp danke ich für die Betreuung bei der Durchführung der Arbeit.
Herrn Prof. Walser (Gynäkologische Tierklinik) danke ich für die Arbeitsmöglichkeit in seinem Haus und die stets gewährte freundliche Unterstützung.
Fräulein Monika Güntner und Fräulein Jap danke ich für die Mithilfe bei den experimentellen Untersuchungen.